DOI:10.11931/guihaia.gxzw202410005

昆明山海棠对肿瘤细胞具有毒性的松香烷型二萜类成分

周堂[1]，林芷淇[1]，王吉[1]，胡炜彦[2]，张荣平[1]，唐然[3]，陈兴龙[1*]

（1. 云南中医药大学 中药学院暨云南省南药可持续利用研究重点实验室，昆明 650500；2. 昆明医科大学 药学院暨云南省天然药物药理重点实验室，昆明 650500；3. 云南农业大学 热带作物学院，云南 普洱 665099）

摘　要: 为探究昆明山海棠（*Tripterygium hypoglaucum*）中具有细胞毒性的松香烷型二萜类成分，该文采用硅胶、小孔树脂及半制备液相色谱等色谱分离技术对昆明山海棠乙酸乙酯萃取物进行分离纯化，运用核磁及质谱等技术鉴定其结构；并通过 CCK-8 法评价化合物对 SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞、SW1990 人胰腺癌细胞、4T1 小鼠乳腺癌细胞的细胞毒性。结果表明：（1）从昆明山海棠中分离得到 10 个松香烷型二萜类化合物，分别鉴定为雷酚内酯 (**1**)、异雷酚新内酯 (**2**)、triptobenzene I (**3**)、triptotin A (**4**)、triptotin B (**5**)、triptobenzene N (**6**)、triptobenzene M (**7**)、雷公藤酚 F (**8**)、triptobenzene A (**9**)、对醌 21 (**10**)。其中，化合物 **4**、**5**、**6**、**7** 为首次从昆明山海棠中分离获得。（2）化合物 **1** 对 SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞表现出细胞毒作用，其 IC_{50} 值为（1.10±0.03） $\mu mol \cdot L^{-1}$；化合物 **1**、**7**、**8** 对 SW 1990 人胰腺癌细胞具有细胞毒性，其 IC_{50} 值分别为（0.47±0.02） $\mu mol \cdot L^{-1}$、（9.26±1.39） $\mu mol \cdot L^{-1}$ 和（4.81±0.77） $\mu mol \cdot L^{-1}$；化合物 **7**、**8**、**9** 对 4T1 小鼠乳腺癌细胞具有细胞毒性，其 IC_{50} 值分别为（3.98±0.73） $\mu mol \cdot L^{-1}$、（0.79±0.05） $\mu mol \cdot L^{-1}$、（2.12±0.08） $\mu mol \cdot L^{-1}$。该研究结果丰富了昆明山海棠的化学成分，为昆明山海棠抗肿瘤活性研究奠定了基础。

关键词： 昆明山海棠，雷公藤属，化学成分，松香烷型二萜，细胞毒性

中图分类号： Q946　　　　　**文献标识码：** A

Abietane diterpenoids with cytotoxicities from *Tripterygium hypoglaucum*

ZHOU Tang[1], LIN Zhiqi[1], WANG Ji[1], HU Weiyan[2], ZHANG Rongping[1], TANG Ran[3], CHEN Xinglong[1*]

(1. *School of Chinese Materia Medica & Yunnan Key Laboratory of Southern Medicine Utilization, Yunnan University of Chinese Medicine*, Kunming 650500, China; 2. *School of Pharmaceutical Science & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University*, Kunming 650500, China; 3. *College of Tropical Crops, Yunnan Agricultural*

基金项目： 云南省基础研究计划-青年项目（202201AU070166）；云南省重点领域科技计划项目（202303AC100025）；云南省南药可持续利用重点实验室开放课题（202105AG070012XS2203 和 202105AG070012XS23014）。

第一作者： 周堂（1996－），硕士，主要从事天然药物活性成分研究，(E-mail)zhoutang20210415@163.com。

[*]通信作者： 陈兴龙，博士，副教授，主要从事天然药物活性成分及其药效物质基础研究，(E-mail)chxlkib@163.com。

University, Puer 665099, Yunnan, China)
Abstract: To study the abietane diterpenoids with cytotoxicities from *Tripterygium hypoglaucum*, the ethyl acetate extract of *T. hypoglaucum* was purified by various chromatographic separation methods such as silica gel, MCI, and semi-preparative high-performance liquid chromatography (HPLC). The structures of the isolated compounds were identified by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy and mass spectrometry (MS). Cytotoxicities of the compounds were performed on SH-SY5Y human neuroblastoma cells, SW1990 human pancreatic cancer cells, and 4T1 mouse breast cancer cells using CCK-8 assay. The results were as follows: (1) Ten abietane diterpenoids were isolated from *T. hypoglaucum* and were identified as: isoneotriptophenolide (**1**), triptophenolide (**2**), triptobenzene I (**3**), triptotin (**4**), triptotin B (**5**), triptobenzene N (**6**), triptobenzene M (**7**), wilforol F (**8**), triptobenzene A (**9**), and quinone 21 (**10**). Compounds **4**, **5**, **6** and **7** were isolated from *T. hypoglaucum* at the first time. (2) Compound **1** showed cytotoxicity against the SH-SY5Y cells with the IC_{50} value of (1.10±0.03) μmol·L^{-1}. Compounds **1**, **7** and **8** showed cytotoxicity on SW1990 cells with the IC_{50} values of (0.47±0.02) μmol·L^{-1}, (9.26±1.39) μmol·L^{-1} and (4.81±0.77) μmol·L^{-1}, respectively. Compounds **7**, **8** and **9** showed inhibitory against the 4T1 cells with the IC_{50} values of (3.98±0.73) μmol·L^{-1}, (0.79±0.05) μmol·L^{-1}, and (2.12±0.08) μmol·L^{-1}. The results of this study enriched the chemical constituents of *T. hypoglaucum* and provided a basis for the development of anti-tumor activity.
Keywords: *Tripterygium hypoglaucum*, *Tripterygium*, chemical constituents, abietane diterpenoids, cytotoxicity

昆明山海棠 (*Tripterygium hypoglaucum*) 又名紫金皮、金刚藤、火把花、断肠草，为卫矛科雷公藤属植物，主要生长在西南地区以及福建、浙江、湖南等地（盘振杰等，2016）。昆明山海棠主要以根入药，具有祛风除湿、活血止血、舒筋接骨、解毒杀虫的功效（王计宏等，2023）。《云南抗癌中草药》中记载："治疗白血病，骨肉瘤，淋巴肉瘤，甲状腺癌，肺癌等"（谢晨琼，2016）。昆明山海棠的特征性化学成分为萜类物质，以含有五元内酯环的雷公藤甲素为代表性化合物 (Duan, et al., 1997; Lin, et al., 2015)。与文献报道同属植物雷公藤 (*Tripterygium wilfordii*) 的化学成分以及功能主治等非常相似 (黄耀峰等，2010)，都具有抗炎、抗肿瘤等生物活性，其中主要成分雷公藤甲素 (Sun et al., 2017)、雷公藤红素 (Yu et al., 2015) 及雷公藤内酯醇经文献报道 (罗尧尧等，2019)，其抗肿瘤活性具有广谱和高效的特点，其作用机制较为多样，可通过抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡等。Miyata 等(2005)研究发现磷脂酰肌醇 3 -激酶是雷公藤甲素抗肿瘤作用的重要靶分子，通过使磷脂酰肌醇 3 -激酶活性的降低，抑制肿瘤细胞增殖。雷公藤内酯酮通过降低基因启动子活性，抑制胰腺癌细胞迁移、侵袭，有效抑制胰腺癌细胞介导的血管生成 (Han et al., 2018)。此外，雷公藤内酯酮还能抑制膜内陷素-1 的表达，从而抑制前列腺癌细胞的侵袭和迁移 (Yuan et

al., 2020)。雷公藤红素也降低了乳腺癌细胞中 mRNA 水平的表达，导致细胞周期阻滞，抑制乳腺癌细胞的生长 (Jang et al., 2011)；雷公藤红素抑制 NF - κB 向细胞核内迁移以及骨髓瘤细胞株 U266 使细胞周期阻滞在 G1 期，进而诱导细胞凋亡 (Tozawa et al., 2011)。

本课题组前期对昆明山海棠进行了研究，发现昆明山海棠化学成分多样且部分成分具有显著的抗炎和抗肿瘤活性 (Chen, et al., 2018; Chen, et al., 2022)。因此，为进一步完善昆明山海棠化学物质基础，深入挖掘该植物的化学成分及其生物活性，依托云南省南药可持续利用研究重点实验室研究平台，采用硅胶、MCI 及半制备高效液相色谱等色谱分离技术对昆明山海棠的乙酸乙酯萃取物进行分离纯化，并采用 SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞、SW1990 人胰腺癌细胞、4T1 小鼠乳腺癌细胞等肿瘤细胞株对分离得到的松香烷型二萜化合物进行细胞毒性筛选，拟探究以下问题：(1) 卫矛科雷公藤属植物昆明山海棠的化学成分；(2) 分离得到单体化合物的肿瘤细胞毒活性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

昆明山海棠于 2020 年 11 月购自昆明市螺蛳湾药材市场，经云南中医药大学张荣平教授鉴定为卫矛科植物昆明山海棠 (*Tripterygium hypoglaucum*) 的干燥根茎，样品号为 NO.2019-0115，储藏于云南中医药大学中药学院暨云南省南药可持续利用研究重点实验室。

1.2 主要仪器、设备和试剂

Bruker AV-600 MHz、AV-400 MHz 超导核磁共振波谱仪（德国 Bruker 公司）；Agilent1290 UPLC/6545 Q-TOF 质谱仪（安捷伦科技有限公司）；YMC-ODS 柱（填料粒径 5 μm，直径 10 mm，长 250 mm，北京赛谱锐思科技有限公司）； LC-52 半制备型高效液相色谱仪（北京赛普锐斯科技有限公司）；MCI CHP-20P GEL（日本三菱化学公司）；Sephadex LH-20（Pharmacia 公司）；柱层析硅胶 G（200~300 目，60~80 目）、薄层层析硅胶 H（青岛海洋化工厂）；色谱纯乙腈（德国默克公司）；色谱纯甲酸（上海阿拉丁公司）；水为超纯水；石油醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、甲醇等有机试剂为国产 AR 级试剂（云南利妍科技有限公司）；低温冷却循环泵（巩义市予华仪器有限责任公司）；氘代试剂（北京伊诺凯有限公司）；旋转蒸发仪（东京理化器械株式会社）；ELX-800 酶标仪（美国宝特公司）；ZHJH-C1109C 超净工作台（上海智诚分析仪器制造有限公司）；HHB11360-S CO_2 培养箱（上海跃进医疗器械厂）；CCK8 试剂盒 (上海泰坦科技股份有限公司)；SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞、SW 1990 人胰腺癌细胞、4T1 小鼠乳腺癌细胞（武汉普诺赛生命科技有限公

司）。

1.3 实验方法

1.3.1 提取与分离

干燥的昆明山海棠根茎 20 kg 粉碎后以 60 L 90 % 乙醇室温浸泡过夜，然后回流提取 2 小时，共 3 次，合并三次提取液浓缩至无乙醇味，以等体积水分散，用 2 倍量乙酸乙酯萃取，共 3 次，合并乙酸乙酯提取物，得到乙酸乙酯部位。乙酸乙酯部位 500.0 g，硅胶柱层析(5.0 kg，23cm × 75 cm)，以石油醚-乙酸乙酯(98∶2、95∶5、90∶10、80∶20, *V*/*V*)洗脱，获得 4 个流分 Fr.1−Fr.4，将各流分进行 LC-MS 分析，发现流分 Fr.2 主要成分为二萜，因此选择这部分作为研究对象。Fr.2 经 MCI 柱色谱，以甲醇-水 (70∶30→100∶0，*V*/*V*) 梯度洗脱后，得到流分 Fr.2-1−Fr.2-4。Fr.2-2 (25.0 g) 经硅胶柱色谱，以氯仿-丙酮 (90∶10、80∶20，*V*/*V*) 梯度洗脱后，通过 RP-18 柱色谱 (70 %甲醇-水，*V*/*V*)和半制备 HPLC (YMC-ODS 柱，50 % 乙腈-水，*V*/*V*，λ = 220/254 nm)，分离得到化合物 **7** (7.0 mg)、**8** (20.0 mg)和 **9** (15.0 mg)。Fr.2-3 (309.0 g)经 RP-18 柱色谱(甲醇-水，70∶30→90∶10，*V*/*V*)及半制备 HPLC (YMC-ODS 柱, 60 % 乙腈-水，*V*/*V*，λ = 220/254 nm)分离得到化合物 **5** (35.0 mg)。Fr.2-4 (40.0 g)经 RP-18 柱色谱，以甲醇-水(50∶50→90∶10，*V*/*V*)梯度洗脱后，通过 RP-18 柱色谱(甲醇-水，60∶30→90∶10，*V*/*V*)及半制备 HPLC (YMC-ODS 柱，40 % 乙腈-水，*V*/*V*，λ = 220/254 nm)和反复重结晶，分离得到化合物 **1** (30.0 mg)、**2** (100.0 mg)、**3** (70.0 mg)、**4** (100.0 mg)、**6** (10.0 mg)和 **10** (100.0 mg)。

1.3.2 细胞毒活性测试 (CCK-8 法)

本实验选用 SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞、SW 1990 人胰腺癌细胞、4T1 小鼠乳腺癌细胞。细胞用 DMEM 培养基并加入双抗 (青霉素 100 $U\cdot mL^{-1}$ 和链霉素 100 $\mu g\cdot mL^{-1}$)，置于 37 ℃、5 % CO_2 培养箱中培养至细胞覆盖率达 90 % 以上时传代，生长状态良好的细胞用于实验研究。

取 96 孔细胞培养板，每孔加入浓度为每毫升 5×10^3 个的细胞悬液 100 μL，37 ℃、5 % CO_2 培养箱中贴壁培养 24 h 后，吸弃原培养液，加入质量浓度分别为 100 $\mu mol\cdot L^{-1}$、50 $\mu mol\cdot L^{-1}$、25 $\mu mol\cdot L^{-1}$ 的受试药物(DMSO 溶解)，每个质量浓度 3 个复孔，空白组加入等量含 0.1 % DMSO 的培养基，以紫杉醇为阳性对照，37 ℃、5 % CO_2 培养箱中培养 24 h。取出细胞培养板，每孔加入含 10 % CCK-8 的培养基，继续培养 2 h。于酶联免疫检测仪 450 nm 处测量各孔的吸光度(A)，计算各组细胞存活率：细胞存活率（%） = (A 样品组 − A 空白对照组) / (A 溶剂对照组 − A 空白对照组) × 100 。试验重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 化合物结构鉴定

从昆明山海棠乙酸乙酯萃取物中得到的 10 个松香烷型二萜类化合物，分别鉴定为雷酚内酯 (**1**)、异雷酚新内酯 (**2**)、triptobenzene I (**3**)、triptotin A (**4**)、triptotin B (**5**)、triptobenzene N (**6**)、triptobenzene M (**7**)、雷公藤酚 F (**8**)、triptobenzene A (**9**)、对醌 21 (**10**)，化学结构如图 1 所示。

图 1 昆明山海棠中化合物 **1**−**10** 的结构

Fig.1 Structures of compounds **1**−**10** from *Tripterygium. hypoglaucum*

化合物 **1**　白色粉末，HR-ESI-MS *m*/*z*：311.1672 $[M-H]^-$。分子式为 $C_{20}H_{24}O_3$。$[\alpha]_D^{20.0}$ + 35.00 (c = 0.29，$CHCl_3$)。^{1}H-NMR (600 MHz，$CDCl_3$) δ_H：6.43 (s, 1H, H-11)，4.99 (s，1H，12-OH)，4.84 (dd，*J* = 17.2，1.4 Hz，1H，H-19a)，4.74 (d，*J* = 17.2 Hz，1H，H-19b)，3.68 (s，3H，14-OMe)，3.17~3.32 (m，1H，H-15)，3.08 (dd，*J* = 17.6，5.0 Hz，1H, H-7a)，2.75~2.79 (m，2H，H-7b/5)，2.40~2.41 (m，2H，H-5/2a)，1.82~1.84 (m，1H，H-2b)，1.71~1.82 (m，1H，H-1a)，1.57-1.53 (m，3H，H-1b/6)，1.20 (s，3H，H-16)，1.19 (s，3H，H-17)，1.16 (s，3H，H-20); ^{13}C-NMR (150 MHz，$CDCl_3$) δ_C：31.0 (t，C-1)，18.6 (t，C-2)，163.3 (s，C-3)，125.2 (s，C-4)，44.0 (d，C-5)，19.5 (t，C-6)，25.5 (t，C-7)，129.3 (s，C-8)，149.2 (s，C-9)，37.3 (s，C-10)，111.9 (d，C-11)，139.9 (s，C-12)，130.8 (s，C-13)，150.8 (s，C-14)，26.1 (d，C-15)，23.8 (q，C-16)，23.7 (q，C-17)，174.5 (s，C-18)，70.6 (t，C-19)，17.3 (q，C-20)。以上数据与文献（王菲菲等，2017）报道基本一致，鉴定为雷酚内酯(triptophenolide)。

化合物 **2**　白色粉末，HR-ESI-MS *m*/*z*：343.1880 $[M+H]^+$。分子式为 $C_{21}H_{26}O_4$。^{1}H-NMR (600 MHz，$CDCl_3$) δ_H：6.43 (s，1H，H-11)，4.99 (s，1H，12-OH)，4.84 (dd，*J* =

17.2，1.4 Hz，1H，H-19a)，4.74 (d，J = 17.2 Hz，1H，H-19b)，3.68 (s，3H，14-OMe)，3.17~3.32 (m，1H，H-15)，3.08 (dd，J = 17.8，5.0 Hz，1H，H-7a)，2.75~2.79 (m，2H，H-7b/5)，2.40~2.41 (m，2H，H-5/2a)，1.82~1.84 (m，1H，H-2b)，1.71~1.82 (m，1H，H-1a)，1.53~1.57 (m，3H，H-1b/6)，1.20 (s，3H，H-16)，1.19 (s，3H，H-17)，1.16 (s，3H，H-20)；^{13}C-NMR (150 MHz，$CDCl_3$) δ_C：31.0 (t，C-1)，18.6 (t，C-2)，125.2 (s，C-3)，163.3 (s，C-4)，44.0 (d，C-5)，19.5 (t，C-6)，25.5 (t，C-7)，129.3 (s，C-8)，149.2 (s，C-9)，37.3 (s，C-10)，111.9 (d，C-11)，139.9 (s，C-12)，130.8 (s，C-13)，150.8 (s，C-14)，26.1 (d，C-15)，23.8 (q，C-16)，23.7 (q，C-17)，174.5 (s，C-18)，70.6 (t，C-19)，17.3 (q，C-20)， 60.2 (q, OCH_3)。以上数据与文献（Peng et al. , 2008）报道基本一致，鉴定为异雷酚新内酯（isoneotriptophenolide）。

化合物 **3**　白色粉末，HR-ESI-MS m/z：327.1553 [M−H]$^-$。分子式为 $C_{20}H_{24}O_4$。^{1}H-NMR (600 MHz，$CDCl_3$) δ_H：7.06 (d，J = 11.8 Hz，1H，H-12)，6.93 (d，J = 11.8 Hz，1H，H-11)，6.10 (s，1H，H-19)，3.08~3.15 (m，1H，H-15)，2.87~2.91 (m，1H，H-7a)，2.79~2.85 (m，1H，H-7b)，2.71 (d，J = 12.8 Hz，1H，H-5)，2.49~2.52 (m，2H，H-1a/2a)，2.32~2.40 (m，2H，H-2b/6a)，1.90~1.93 (m，1H，H-6b)，1.64~1.69 (m，1H，H-1b)，1.27 (d，J = 6.8 Hz，3H，H-17)，1.26 (d，J = 6.8 Hz，3H，H-16)，1.03 (s，3H，H-20)；^{13}C-NMR (150 MHz，$CDCl_3$) δ_C：32.4 (t，C-1)，18.9 (t，C-2)，128.8 (s，C-3)，161.1 (s，C-4)，40.3 (d，C-5)，18.1 (t，C-6)，22.5 (t，C-7)，120.6 (s，C-8)，143.7 (s，C-9)，36.2 (s，C-10)，116.2 (d，C-11)，123.3 (d，C-12)，131.0 (s，C-13)，150.8 (s，C-14)，26.9 (d，C-15)，22.6 (q，C-16)，22.7 (q，C-17)，171.1 (s，C-18)，97.3 (d，C-19)，22.5 (q，C-20)。以上数据与文献（Xu et al. , 2011）报道基本一致，鉴定为 triptobenzene I。

化合物 **4**　浅黄色粉末，HR-ESI-MS，m/z 359.1453 [M+H]$^+$。分子式为：$C_{20}H_{22}O_6$。$[\alpha]^{23.5}_{D}$ + 68.66 (c = 0.067，$CHCl_3$)。^{1}H-NMR (600 MHz，$CDCl_3$) δ_H：6.27 (d，J = 0.8 Hz，1H，H-12)，4.84 (dd，J = 17.6，1.4 Hz，1H，H-19a)，4.70 (dd，J = 17.6，1.4 Hz，1H，H-19b)，4.42 (dd，J = 11.4，6.2 Hz，1H，H-1)，2.96 (dd，J = 13.4，6.6 Hz，1H，H-15)，2.76 (dd，J = 19.0，6.2 Hz，2H，H-2a/7a)，2.56 (d，J = 12.8 Hz，1H，H-5)，2.37 (ddd，J = 19.0，10.8，7.8 Hz，1H，H-7b)，2.22~2.30 (m，1H，H-2b)，1.93~2.02 (m，1H，H-6a)，1.77~1.89 (m，1H，H-6b)，1.31 (s，3H，H-20)，1.10 (d，J = 6.8 Hz，3H，H-16)，1.05 (d，J = 6.8 Hz，3H，H-17)；^{13}C-NMR (150 MHz，$CDCl_3$) δ_C：84.1 (d，C-1)，22.6 (t，C-2)，147.6 (s，C-3)，161.9 (s，C-4)，41.0 (d，C-5)，17.7 (t，C-6)，21.9 (t，C-7)，130.1 (s，C-8)，147.6 (s，C-9)，36.4 (s，C-10)，93.1 (s，C-11)，132.8 (d，C-12)，147.6 (s，C-13)，

184.5 (s，C-14)，26.6 (d，C-15)，21.5 (q，C-16)，21.3 (q，C-17)，172. 6 (s，C-18)，70.2 (t，C-19)，14.1 (s，C-20)。以上数据与文献（Guo et al. , 1999）报道基本一致，鉴定为 triptotin A。

化合物 **5** 浅黄色粉末， HR-ESI-MS, *m/z* 363.1814 $[M+H]^{+}$。分子式为：$C_{20}H_{22}O_{6}$。$[\alpha]_{D}^{25}$ + 91.75 (c = 0.166，$CHCl_3$)。^{1}H-NMR (600 MHz，$CDCl_3$) δ_{H}：6.22 (1H，s，H-12)，4.51-4.48 (1H，m，H-11)，3.78 (1H，d，*J* = 11.6 Hz，H-18a)，3.71 (1H，d，*J* = 11.6 Hz，H-18b)，2.92~2.97 (2H，m，H-2a/15)，2.76 (1H，dd，*J* = 18.4，3.8 Hz，H-7a)，2.47~2.52 (1H，m，H-2b)，2.19~2.25 (1H，m，H-7b)，1.90~1.93 (1H，m，H-6a)，1.72 (2H，brs，H-5/6b)，1.37 (3H，s，H-20) 1.18 (3H，s，H-19)，1.07 (3H，d，*J* = 6.8 Hz，H-17)，1.03 (3H，d，*J* = 6.8 Hz，H-16)；^{13}C-NMR (150 MHz，$CDCl_3$) δ_{C}：82.9 (d，C-1)，37.4 (t，C-2)，214.2 (s，C-3)，51.2 (s，C-4)，48.2 (d，C-5)，17.2 (t，C-6)，24.2 (t，C-7)，130.9 (s，C-8)，146.8 (s，C-9)，37.7 (s，C-10)，93.8 (s，C-11)，133.5 (d，C-12)，147.0 (s，C-13)，184.8 (s，C-14)，26.4 (d，C-15)，21.5 (q，C-16)，21.3 (q，C-17)，65.6 (t，C-18)，24.3 (q，C-19)，13.9 (q，C-20)。以上数据与文献（Guo et al. , 1999）报道基本一致，鉴定为 triptotin B。

化合物 **6** 白色粉末，HR-ESI-MS, *m/z* 315.1932 $[M+H]^{+}$。分子式为 $C_{20}H_{26}O_{3}$。^{1}H-NMR (600 MHz，$CDCl_3$) δ_{H}：7.89 (d，*J* = 1.5 Hz，1H，H-14)，7.43 (dd，*J* = 8.1，1.8 Hz，1H，H-12)，7.29 (d，*J* = 8.2 Hz，1H，H-12)，4.02 (d，*J* = 11.2 Hz，1H，H-18a)，3.69 (d，*J* = 11.2 Hz，1H，H-18b)，2.89~2.97 (m，1H，H-15)，2.79~2.85 (m，2H，H-6)，2.74 (dd，*J* = 17.4，3.6 Hz，1H，H-2a)，2.60~2.70 (m，2H，H-1a/2b)，2.49 (dd，*J* = 14.4，3.2 Hz，1H，H-1b)，2.08 (td，*J* = 12.6，6.6 Hz，1H，H-5)，1.41 (s，3H，H-19)，1.25 (s，3H，H-20)，1.23 (t，*J* = 6.6 Hz，6H，H-16/17)；^{13}C-NMR (150 MHz，$CDCl_3$) δ_{C}：36.2 (t，C-1)，35.4 (t，C-2)，215.2 (s，C-3)，52.1 (s，C-4)，49.9 (d，C-5)，36.2 (t，C-6)，197.9 (s，C-7)，130.2 (s，C-8)，150.9 (s，C-9)，37.2 (s，C-10)，124.3 (d，C-11)，132.9 (d，C-12)，147.5 (s，C-13)，125.3 (d，C-14)，33.6 (d，C-15)，23.7 (q，C-16)，23.7 (q，C-17)，65.7 (t，C-18)，21.4 (q，C-19)，23.5 (q，C-20)。以上数据与文献（Duan et al., 1999）报道基本一致，鉴定为 triptobenzene N。

化合物 **7** 白色粉末，HR-ESI-MS *m/z*：315.1962 $[M-H]^{-}$分子式为 $C_{20}H_{28}O_{3}$。^{1}H-NMR (600 MHz，$CDCl_3$) δ_{H}：6.84 (s，1H，H-14)，6.61 (s，1H，H-11)，4.08 (d，*J* = 11.4 Hz，1H，H-18a)，3.51 (d，*J* = 11.4 Hz，1H，H-18b)，3.13 (dt，*J* = 13.6，6.8 Hz，1H，H-15)，2.86 (dd，*J* = 16.8，5.4 Hz，1H，H-7a)，2.61~2.70 (m，2H，H-2)，2.42~2.61 (m，1H，H-

1a/7b)，2.09 (d，*J* = 13.0 Hz，1H，H-5)，1.92~2.06 (m，2H，H-1b/6a)，1.60~1.68 (dd，*J* = 12.8，5.8 Hz，1H，H-6b)，1.35 (s，3H，H-19)，1.24 (s，3H，H-20)，1.23 (t，*J* = 6.6 Hz，6H，H-16/17)；^{13}C-NMR (150 MHz，$CDCl_3$) δ_C：37.2 (t，C-1)，34.8 (t，C-2)，221.0 (s，C-3)，50.8 (s，C-4)，51.2 (d，C-5)，19.8 (t，C-6)，30.3 (t，C-7)，126.4 (s，C-8)，144.8 (s，C-9)，36.8 (s，C-10)，112.1 (d，C-11)，151.3 (s，C-12)，132.6 (s，C-13)，126.6 (d，C-14)，26.8 (d，C-15)，22.6 (q，C-16)，22.5 (q，C-17)，65.7 (t，C-18)，22.2 (q，C-19)，25.7 (q，C-20)。以上数据与文献（Duan et al., 1997）报道基本一致,鉴定为 triptobenzene M。

化合物 **8**　白色粉末，HR-ESI-MS *m/z*：345.2064 $[M-H]^-$ 分子式为 $C_{21}H_{30}O_4$。^{1}H-NMR (400 MHz，$CDCl_3$) δ_H：6.35 (s，1H，H-11)，4.08 (d，*J* = 11.3 Hz，1H，H-18a)，3.76 (s，3H，12-OMe)，3.54 (d，*J* = 11.3 Hz，1H，H-18b)，3.41~3.50 (m，1H，H-15)，2.79 (dt，*J* = 21.8，10.9 Hz，1H，H-7a)，2.57~2.74 (m，2H，H-2)，2.39~2.55 (m，2H，H-1a/7b)，2.01~2.14 (m，2H，H-1b/6a)，1.92~2.00 (m，1H，H-6b)，1.34 (s，3H，H-19)，1.33 (s，3H，H-20)，1.32 (overlap，3H，H-16)，1.30 (overlap，3H，H-17)；^{13}C-NMR (100 MHz，$CDCl_3$) δ_C：37.3 (t，C-1)，35.0 (t，C-2)，220.2 (s，C-3)，51.12 (s，C-4)，50.9 (d，C-5)，19.1 (t，C-6)，24.4 (t，C-7)，114.0 (s，C-8)，145.3 (s，C-9)，37.1 (s，C-10)，100.8 (d，C-11)，156.9 (s，C-12)，119.5 (s，C-13)，151.7 (s，C-14)，24.4 (d，C-15)，20.9 (q，C-16)，20.8 (q，C-17)，65.6 (t，C-18)，22.1 (q，C-19)，25.3 (q，C-20)，55.7 (q，12-OMe)。以上数据与文献（Morota et al., 1995）报道基本一致,鉴定为雷公藤酚 F（wilforol F）。

化合物 **9**　白色粉末，HR-ESI-MS *m/z*：317.2116 $[M+H]^+$。分子式为 $C_{20}H_{28}O_3$。^{1}H-NMR (400 MHz，$CDCl_3$) δ_H：7.04 (d，*J* = 8.2 Hz，1H，H-12)，6.84 (d，*J* = 8.3 Hz，1H，H-11)，4.08 (d，*J* = 11.3 Hz，1H，H-18a)，3.55 (d，*J* = 11.2 Hz，1H，H-18b)，3.15 (dt，*J* = 13.6，6.8 Hz，1H，H-15)，2.92 (dd，*J* = 16.8，5.4 Hz，1H，H-7a)，2.74~2.78 (m，1H，H-7b)，2.29~2.73 (m，1H，H-2a)，2.55~2.61 (m，1H，H-2b)，2.35~2.40 (m，1H，H-1a)，2.13 (d，*J* = 13.0 Hz，1H，H-5)，2.04~2.07 (m，2H，H-1b)，1.83~1.86 (m，1H，H-6a)，1.70 (dd，*J* = 12.8，5.8 Hz，1H，H-6b)，1.34 (s，3H，H-19)，1.28 (s，3H，H-20)，1.24 (t，*J* = 6.4 Hz，6H，H-16/17)；^{13}C-NMR (100 MHz，$CDCl_3$) δ_C：37.4 (t，C-1)，35.0 (t，C-2)，220.2 (s，C-3)，51.2 (s，C-4)，50.9 (d，C-5)，19.1 (t，C-6)，24.9 (t，C-7)，120.9 (s，C-8)，145.6 (s，C-9)，36.9 (s，C-10)，117.6 (d，C-11)，123.7(d，C-12)，130.7 (s，C-13)，150.2 (s，C-14)，26.8 (d，C-15)，22.8 (q，C-16)，22.6 (q，C-17)，65.7 (t，C-18)，22.1 (q，C-19)，25.5 (q，C-20)。以上数据与文献（Takaishi et al., 1997）报道基本一致，定为 triptobenzene A。

化合物 **10**　黄色粉末，HR-ESI-MS *m/z*：325.1443 $[M-H]^-$。分子式为 $C_{20}H_{22}O_4$。^{1}H-NMR (400 MHz，$CDCl_3$) δ_H：6.42 (s，1H，H-12)，4.65~4.88 (m，2H，H-19)，3.09~3.16

(m，1H，H-1a)，2.95~3.06 (m，1H，H-15)，2.77~2.84 (m，1H，H-7a)，2.62 (d，J = 12.8 Hz，1H，H-7b)，2.46~2.58 (m，1H，H-1b)，2.37~2.45 (m，3H，H-2a/6)，1.41~1.54 (m，1H，H-5)，1.22~1.33 (m，1H，H-2b)，1.16 (s，3H，H-20)，1.13 (d，J = 6.8，2.3 Hz，6H，H-16/17)；^{13}C-NMR (100 MHz，$CDCl_3$) δ_C：18.7 (t，C-1)，30.8 (t，C-2)，125.6 (s，C-3)，161.3 (s，C-4)，42.5 (d，C-5)，18.5 (t，C-6)，24.3 (t，C-7)，142.6 (s，C-8)，147.8 (s，C-9)，36.8 (s，C-10)，187.5 (s，C-11)，131.7 (d，C-12)，153.5 (s，C-13)，187.3 (s，C-14)，26.5 (d，C-15)，21.4 (q，C-16)，21.3 (q，C-17)，173.8 (s，C-18)，70.3 (t，C-19)，18.3 (q，C-20)。以上波谱数据与文献（汪云松等，2010）报道基本一致，故鉴定为对醌 21（quinone 21）。

2.2 肿瘤细胞毒性筛选结果

表 1 化合物 1-10 的细胞毒性 (*n*=3)

Table 1 Cytotoxicities of compounds 1−10 (*n*=3)

化合物 Compound	IC_{50}（μmol·L^{-1}）		
	人神经母细胞瘤细胞 Human neuroblastoma cell SH-SY5Y	人胰腺癌细胞 Human pancreatic cancer cell SW1990	小鼠乳腺癌细胞 Mouse breast cancer cell 4T1
1	1.10±0.03	0.47±0.02	—
2	—	—	626.40±10.57
3	40.38±0.76	—	130.10±9.76
4	—	100.00±18.88	81.42±6.89
5	—	79.73±6.77	63.02±5.33
6	104.90±11.3	99.06±8.66	1 786.00±109.64
7	—	9.26±1.39	3.98±0.73
8	—	4.81±0.77	0.79±0.05
9	35.32±3.21	39.74±2.46	2.12±0.08
10	63.16±5.33	75.38±6.07	63.26±6.66
[a]紫杉醇 Taxol	39.40±0.87	92.16±5.53	3.71±0.1

注：数据=平均值±标准差；[a]表示阳性对照；—表示无细胞毒性。

Note: Data= $\bar{x}$±s. [a] indicates positive control;— indicates no cytotoxicity

化合物 **1-10** 的细胞毒性筛选结果表明，化合物 **1** 和 **9** 对 SH-SY5Y 细胞的生长具有毒性作用，其 IC_{50} 值分别为（1.10±0.03） μmol·L^{-1} 和（35.32±3.21） μmol·L^{-1}，其中化合物 **1** 对人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 的毒性明显强于阳性对照紫杉醇[IC_{50} 值为（39.40±0.87） μmol·L^{-1}]；化合物 **1**、**7**、**8**、**9** 和 **10** 能杀伤 SW1990 细胞，其 IC_{50} 值分别为（0.47±0.02） μmol·L^{-1}、（9.26±1.39） μmol·L^{-1}、（4.81±0.77） μmol·L^{-1}、（39.74±2.46） μmol·L^{-1} 和（75.38±6.07） μmol·L^{-1}，其中化合物 **1**、**7** 和 **8** 的细胞毒性明显强于阳性对照紫杉醇[IC_{50} 值为（92.16±5.53） μmol·L^{-1}]；化合物 **7**、**8** 和 **9** 对 4T1 细胞显示出毒性作用，其 IC_{50} 值分别为（3.98±0.73） μmol·L^{-1}、（0.79±0.05） μmol·L^{-1} 和（2.12±0.08） μmol·L^{-1}。详细研究结果见表 1。

3 讨论

本研究从昆明山海棠中分离得到 10 个松香烷型二萜类化合物，其中化合物 **4**、**5**、**6**、**7** 为首次从昆明山海棠中分离获得。经文献报道化合物 **1** 可通过抑制 NF-κB 降低 EMT 相关转录因子达到抗哮喘作用 (岑梦姣和翁鹏程，2024)，以及对人肿瘤细胞株 HepG2 细胞具有细胞毒活性，化合物 **4** 和 **5** 对人肿瘤细胞株 U251 细胞具有细胞毒活性 (Gao et al., 2016)，昆明山海棠中此类化合物较多，但对此类单体成分抗肿瘤研究较少。本研究对分离到的 10 个化合物进行了肿瘤细胞毒活性筛选，结果显示化合物雷酚内酯 (**1**)、triptobenzene M (**7**)、雷公藤酚 F (**8**) 和 triptobenzene A (**9**) 对这 3 种细胞株均具有较强的细胞毒性作用，其中雷酚内酯 (**1**) 、triptobenzene M (**7**)、雷公藤酚 F (**8**)、triptobenzene A (**9**)和对醌 21 (**10**)对人胰腺癌细胞 SW1990 均表现出的毒性明显强于阳性对照紫杉醇，其中化合物 **7** 和 **10** 对其他肿瘤细胞细胞毒性较弱或没有细胞毒性，选择性强。此外，化合物 **1** 对人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 也有着较好的细胞毒性；化合物 8 对小鼠乳腺癌细胞 4T1 也有较好的细胞毒性。值得一提的是 triptobenzene A (**9**) 对人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y、人胰腺癌细胞 SW1990 和小鼠乳腺癌细胞 4T1 均有较强的杀伤作用，结果显示不同化合物对不同肿瘤细胞毒性作用具有差异性。

昆明山海棠中二萜类化合物雷公藤甲素对肿瘤细胞毒活性有着较好的效果，上述研究发现其他二萜类化合物对肿瘤细胞同样具有较好的细胞毒性，但不同化合物对不同的细胞株存在差异，启示我们接下来应增加肿瘤细胞株进行进一步研究。本研究通过对昆明山海棠松香烷型二萜类化学成分和及其对 3 种肿瘤细胞株毒性的研究，丰富了昆明山海棠的化学成分和生物学作用。鉴于昆明山海棠中化学成分复杂，抗肿瘤作用是否是多种成分共同作用的结果。因此，我们将进一步挖掘昆明山海棠中化学成分，探寻其他具有抗肿瘤作用的活性成分。

参考文献：

CEN MJ, WENG PC. 2024. Triptophenolide reversing the process of epithelial-mesenchymal transition of pulmonary tracheal epithelial cells through NF-κB pathway [J]. Zhejiang Medical Journal, 46 (2): 139-145+227. [岑梦姣，翁鹏程，2024. 雷酚内酯通过 NF-κB 途径逆转肺气管上皮细胞上皮间充质转化进程的研究 [J]. 浙江医学，46 (2): 139-145+227.]

CHEN XL, GENG YJ, HU WY, et al., 2022. Cytotoxic terpenoids from *Tripterygium hypoglaucum* against human pancreatic cancer cells SW1990 by increasing the expression of

Bax protein [J]. Journal of Ethnopharmacology, 289: 115010.

CHEN XL, LIU F, XIAO XR, et al., 2018. Anti-inflammatory abietanes diterpenoids isolated from *Tripterygium hypoglaucum* [J]. Phytochemistry, 156: 167-175.

DUAN HQ, KAWAZOE K, KBAVDO M, et al., 1997. Di-and triterpenoids from *Tripterygium hypoglaucum* [J]. Phytochemistry, 46(3): 535-543.

DUAN H, TAKAISHI Y, MOMOTA H, et al., 1999. Immunosuppressive diterpenoids from *Tripterygium wilfordii* [J]. Journal of Natural Products, 62 (11): 1522-1525.

GUO FJ, XI MCL, LI YC. 1999. Triptotin A and B, two novel diterpenoids from *Tripterygium wilfordii* [J]. Tetrahedron Letters, 40(5): 947-950.

HAN H, DU L, CAO Z, et al. 2018. Triptonide potently suppresses pancreatic cancer cell-mediated vasculogenic mimicry by inhibiting expression of VE-cadherin and chemokine ligand 2 genes [J]. European Journal of Pharmacology, 818: 593-603.

HUANG YF, GONG SJ, HUANG L et al., 2010. Comparative study on chemical constituents in roots of *Triptergium wilfordii* Hook. f. and *T. hypoglaucum* (Levi.) Hutch. by thin layer chromatography [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica, 21 (8): 1973-1974. [黄耀峰，龚受基，黄林，等，2010. 雷公藤和昆明山海棠植物根中化学成分的薄层色谱对比研究 [J]. 时珍国医国药，21 (8): 1973-1974.]

JANG SY, JANG SW, KO J, 2011. Celastrol inhibits the growth of estrogen positive human breast cancer cells through modulation of estrogen receptor α.[J].Cancer Lett, 1:57-65.

KARIN V, JOHANNA J. 2023. The evolving tumor microenvironment: from cancer initiation to metastatic outgrowth [J]. Cancer Cell, 41(3): 374-403.

LIN N, MA J, LI C, et al., 2015. Novel rearranged and highly oxygenated abietane diterpenoids from the leaves of *Tripterygium wilfordii* [J]. Tetrahedron Letters, 56(10): 1239-1243.

LUO YY, SHI JF, CHEN L, et al., 2019. Research progress on triptolide functionalized nanoparticulate drug delivery systems for tumor treatment [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 44 (21): 4566-4572. [罗尧尧，石金凤，陈梁，等，2019. 雷公藤甲素功能化纳米递药系统用于抗肿瘤的研究进展 [J]. 中国中药杂志，44 (21): 4566-4572.]

MIYATA Y, SATO T, ITO A. 2005. Triptolide, a diterpenoid triepoxide, induces antitumor proliferation via activation of c-Jun NH2-terminal kinase 1 by decreasing phosphatidylinositol 3-kinase activity in human tumor cells [J].Biochem Biophys Res Commun, 4: 1081-1086.

MOROTA T, OGINO T, KATSYHARA K, et al., 1995. D:A-friedo-24-noroleanane triterpenoids from *Tripterigium wilfordii* [J]. Phytochemistry, 40(3): 865-870.

PAN ZJ, LI ZW, ZHANG ZH et al., 2016. Research progress on chemical composition and activity of THH [J]. Applied Chemical Industry, 45(S2):8-10+14. [盘振杰，李志文，张钊华，等，2016. 昆明山海棠的化学成分及活性研究进展[J]. 应用化工，45(S2):8-10+14.]

PENG AH, LI R, HU J, et al., 2008. Flow rate gradient high-speed counter-current chromatography separation of five diterpenoids from *Triperygium wilfordii* and scale-up [J]. Journal of Chromatography A, 1200(2): 129-135.

SUN YY, XIAO L, WANG D, et al., 2017. Triptolide inhibits viability and induces apoptosis in liver cancer cells through activation of the tumor suppressor gene p53 [J]. International Journal of Oncology, 10: 3892.

TAKAISHI Y, WARIISHI N, TATEISHI H, et al., 1997. Phenolic diterpenes from *Tripterygium wilfordii* var. *regelii* [J]. Phytochemistry, 45(5): 979-984.

TOZAWA K, SAGAWA M, KIZAKI M, 2011. Quinone methide tripterine, celastrol, induces apoptosis in human myeloma cells via NF-κB pathway[J]. International Journal of Oncology, 39(5): 1117-1122.

WANG FF, ZHANG YM, HE Y et al., 2017. Spectral analysis and structural elucidation of *Triptophnolide* [J]. Chinese Journal of Magnetic Resonance, 34(1): 35-42. [王菲菲，张聿梅，何轶，等，2017. 雷酚内酯的波谱学数据与结构确证 [J]. 波谱学杂志，34(1): 35-42.]

WANG JH, YANG BJ, SUN YM, et al., 2023. Study on chemical constituents and anti-tumor activity from the Root of *Tripterygium hypoglaucum*. Journal of Yunnan Minzu University, 32(2): 1-10. [王计宏，杨碧娟，孙玉梅，等，2023. 昆明山海棠根茎的化学成分及其抗肿瘤活性研究[J]. 云南民族大学学报 (自然科学版)，32(2): 1-10.]

WANG YS, HUANG R, YANG JH et al., 2010. Research progress on chemical constituents of *Triptery giumwil fordii* Hook.f. [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 41(8): 1252-1254.[汪云松，黄荣，杨靖华，等，2010. 火把花二萜化学成分研究[J]. 中草药，41(8): 1252-1254.]

XIE CQ. 2016. Study on effective substance basis and action mechanism of Tripterygium hypoglaucum (levl.) Hutch based on activity of anti-multidrug resistance cancer [D]. Nanjing University of Chinese Medicine. [谢晨琼，2016 基于抗多药耐药肿瘤活性导向的昆明山海

棠药效物质基础及作用机制研究[D]. 南京：南京中医药大学.]

XU JZ, LU J, SUN F, et al., 2011. Terpenoids from *Tripterygium wilfordii* [J]. Phytochemistry, 72(11): 1482-1487.

YU X, ZHOU X, FU C, et al, 2015. Celastrol induces apoptosis of human osteosarcoma cells via the mitochondrial apoptotic pathway [J]. Oncology Reports, 34 (3): 1129-1136.

YUAN S, WANG L, CHEN X, et al. 2020. Corrigendum to Triptolide inhibits the migration and invasion of human prostate cancer cells via Caveolin-1/CD147/MMPs pathway [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 122: 109782